FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

3

SUR QUELQUES APPLICATIONS du DOSAGE COLORIMÉTRIQUE des 17-CÉTO-STÉROÏDES NEUTRES

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

LE 1er AVRIL 1955

PAR

HÉLÈNE FOURNIER

Née le 12 Mars 1929, à NICE (A. M.)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse : MM. C. DUMAZERT, Président ; J. DELPHAUT, H. ROUX, Ch. GREBUS, Assesseurs

IMPRIMERIE MODERNE
GARDANNE
1955

SUR QUELQUES APPLICATIONS DU DOSAGE COLOMÉTRIQUE DES 17-CÉTO-STÉROÏDES NEUTRES

FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

SUR QUELQUES APPLICATIONS du DOSAGE COLORIMÉTRIQUE des 17-CÉTO-STÉROÏDES NEUTRES

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

LE 1er AVRIL 1955

PAR

HÉLÈNE FOURNIER

Née le 12 Mars 1929, à NICE (A. M.)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Examinateurs de la Thèse :

MM. C. DUMAZERT, Président

J. DELPHAUT
H. ROUX
Ch. GREBUS
} Assesseurs

IMPRIMERIE MODERNE
GARDANNE
1955

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen : G. MORIN. **Assesseur : J. DELPHAUT**

Doyen honoraire : L. IMBERT

Professeurs honoraires : MM. AUBARET, AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND, GABRIEL, HECKENROTH, JOYEUX, OLMER, RIMATTEI, ROCHE, ROGER.

Chargé de cours honoraire : M. TIAN

Secrétaire Principal : J. COMTE **Bibliothécaire : Mlle PERRIN**

PROFESSEURS

Anatomie	GRISOLI
Anatomie Pathologique	GASTAUT
Bactériologie et Pathologie générale	BRAHIC
Botanique et Cryptogamie	PELLISSIER
Cardiologie clinique et expérimentale	JOUVE
Chimie Médicale	DERRIEN
Chimie Analytique et Hydrologie	ARNOUX
Chimie	DUMAZERT
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédie	SALMON
Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie expérimentale	DE VERNEJOUL
Clinique Dermato-syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER J.
Clinique des Maladies des Voies digestives et de la Nutrition	
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD.
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologique	CHOSSON
Clinique Ophtalmologique	JAYLE
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histologie	PICARD
Hygiène et Médecine Préventive	SAUTET
Matière Médicale	BALANSARD

R.UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	RANQUE
Pathologie chirurgicale	CARCASSSONNE
Pathologie interne	AUDIER
Pharmacologie	MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DUBOULOZ
Thérapeutique	PIERI
Professeur sans chaire	ROUX

Maîtres de Conférences Agrégés

MM. BOURRET	MM. MERCIER Jacques
DONNET	MOURGUE
GREBUS	LISSITSKY

Agrégés en exercice

MM. APPAIX	MM. MARONNEAUD
BERNARD	MONGES H.
CREMIEUX	OLLIVIER
GRANJON	OURGAUD
HENRY	PAOLI
LAMY	RAYBAUD
LAVAL	SERMENT
LENA	VAGUE

Agrégés libres

MM. BERTHIER	MM. IMBERT
DOR	RECORDIER
FIGARELLA	

Chargés des fonctions de Maîtres de Conférences

Anatomie Pathologique	M. PAYAN
Botanique et Cryptogamie	M. BERNARD P.
Histologie	M. STAHL

Chargé des fonctions d'Agrégé

Clinique Urologique	M. CHAUVIN

A MES PARENTS,

Avec toute ma reconnaissance et ma tendresse.

A Madame TRAFFORT,

A Monsieur et Madame TRAFFORT,

Avec l'expression de mon affection respectueuse.

À MON MAITRE,

Monsieur le Professeur C. DUMAZERT,

Qui m'a accueillie dans son laboratoire et m'a guidée jusqu'au terme de ce travail, avec une patiente et inépuisable bonté, j'apporte le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur J. DELPHAUT,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

dont l'aimable sollicitude et le bienveillant concours ont grandement facilité ma tâche, j'exprime toute ma gratitude.

A Monsieur le Professeur H. ROUX,

Je demande de trouver ici l'expression de ma vive gratitude pour l'intérêt qu'il a accordé à mes études, et pour avoir accepté de siéger à mon Jury de Thèse.

A Monsieur le Professeur C. GREBUS,

Qui me fait l'honneur de juger ce travail, j'exprime mes sentiments de respectueuse reconnaissance.

INTRODUCTION

« Similia similibus curantur », PARACELSUS (1493-1541) consacrait ainsi une thérapeutique empirique connue et employée depuis la plus haute antiquité. Les guerriers antiques ne recueillaient-ils pas le cœur des ennemis valeureux tombés sur le champ de bataille, afin de s'approprier leur courage ? Toutefois, c'est Théophile de BORDEU (Montpellier) qui donna, en 1775, la première notion d'endocrinologie moderne : « c'est au médecin à suivre et classer les divers reflux qui surviennent par la faute de chaque organe en particulier. » Les recherches effectuées, dans ce sens, jusqu'à nos jours ont permis d'abandonner peu à peu les organes eux-mêmes pour des extraits de plus en plus purifiés et enfin pour leurs produits de sécrétion. Elles permirent aussi de différencier les organes à sécrétion externe (exocrine) des organes à sécrétion interne (endocrine).

Les organes endocrines sont des formations glandulaires dépourvues de canal excréteur, dont l'ablation provoque de nombreux troubles qui doivent disparaître ou s'atténuer si on administre des extraits de glande ou des hormones. On désigne sous le nom d'hormone des produits de sécrétion capables d'atténuer ou de faire disparaître les symptômes résultant de l'altération ou de la destruction d'une glande déterminée. Les glandes endocrines sécrètent ces hormones d'une façon continue sans les emmagasiner (excepté le corps thyroïde). On distingue deux catégories d'hormones : les hormones dérivées d'acides aminés et les stéroïdes.

Les hormones stéroïdes peuvent être classées selon leur action physiologique en trois grands groupes :

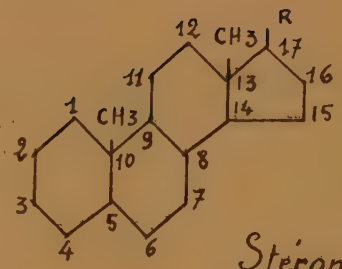
— les hormones mâles ou androgènes,

— les hormones femelles : œstrogènes et lutéostéroïdes,

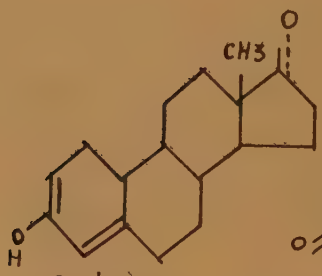
— les hormones cortico-surrénaliennes ou corticoïdes.

Chimiquement, ces hormones stéroïdes dérivent toutes du diméthyl-cyclo-pentano-phénanthrène ou stérane.

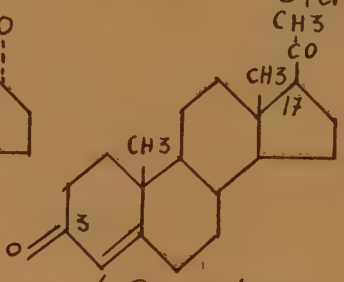
Formule de quelques Stéroïdes énoncés dans le texte.



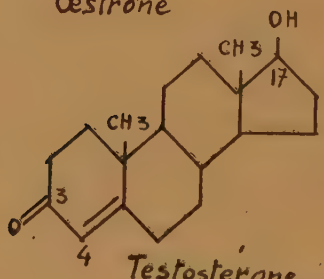
Stérone



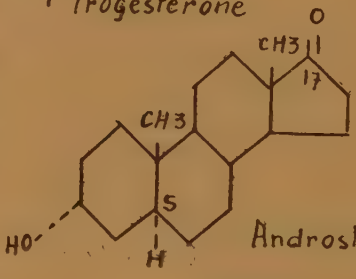
Œstrone



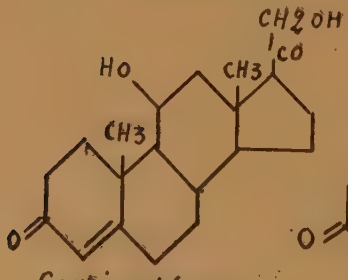
4 Progestérone



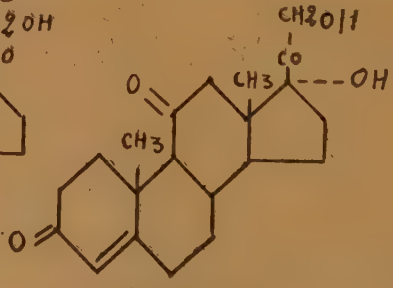
Testostérone



Androstérone



Corticostérone



Cortisone

Les *œstrogènes* sont toutes des composés phénoliques : œstradiol, œstrone et œstriol.

Les *lutéostéroïdes* sont tous des composés en C_{21}, appartenant à la série normale des stéroïdes.

Les *androgènes* sont des stéroïdes à 19 atomes de carbone ; les plus importants de ces corps sont la testostérone et l'androstérone (cortex surrénal, testicules).

La testostérone porte un groupement cétonique en position α, β sur le cycle A, ce qui lui confère une grande sensibilité aux alcalis. C'est la Δ 4-androstène - 17 - ol-3-one.

L'androstérone fait partie de la série allo (A/B trans) des stéroïdes, dont le chef de file est le noyau du cholestane, mais ici l'orientation du groupement alcoolique est α et non β. Elle fait partie des trois principaux stéroïdes que l'on considère comme des produits d'excrétion du métabolisme des androgènes. Elle donne une réaction colorée avec le méta-dinitro-benzène en présence de potasse (réaction de ZIMMERMANN) (57), qui permet de doser les 17-céto-stéroïdes neutres dans l'urine.

Les *corticoïdes* sont tous des stéroïdes à 21 atomes de carbone. Six de ces stéroïdes, extraits des surrénales, produisent les actions physiologiques caractéristiques des extraits totaux de ces glandes.

Le métabolisme (39) des stéroïdes est mal connu, il semble toutefois que ces hormones soient détruites ou transformées par le foie (37 - 40 - 41).

Si on peut classer ces corps selon leur action physiologique, il est beaucoup plus difficile de leur assigner une origine anatomique bien déterminée. En effet, les glandes qui les produisent sous l'action des stimulines hypophysaires ne sont pas, excepté les ovaires, vraiment spécialisées. C'est ainsi que la surrénale et les testicules produisent des œstrogènes. BEALL (5) a trouvé de fortes quantités d'œstrogènes dans les testicules de cheval et dans les surrénales de bœuf. Nous signalons qu'une documentation plus ample peut être trouvée dans les ouvrages de PINCUS (35) et HOUSSAY (20).

Les androgènes contrôlent le développement du tractus génital mâle et le développement des caractères secondaires qui s'y rattachent.

Les hormones femelles, par suite du caractère complexe de l'organisme qui les secrète, doivent remplir deux rôles bien différents, œstrogènes et lutéostéroïdes répondent à ce besoin et règlent les processus du cycle menstruel et de la grossesse.

Les corticoïdes ont une action primordiale dans différents métabolismes et dans la régulation de nombreuses fonctions. Ils régularisent le métabolisme de certains électrolytes (Na, Cl, K) et de l'eau (désoxycorticostérone) et leur élimination. Ils maintiennent constant le volume du sang et de la pression artérielle Certains, comme la cortisone et les dérivés portant une fonction oxygénée en C_{11} règlent le métabolisme des glucides, des protéines et dans certains cas des lipides (production de corps cétonique). Enfin, les corticoïdes ont une action importante dans les phénomènes de résistance de l'organisme à certains agents physiques ou chimiques (production d'anticorps, anaphylaxie et autres réactions sérologiques). Cette action antigénique des stéroïdes corticoïdes due à la formation d'anticorps (globuline γ) par destruction secondaire des lymphocytes permet d'étudier l'activité fonctionnelle des glandes surrénales en fonction de la formule leucocytaire. En effet, si le taux des hormones gluco-protidiques du cortex (oxystéroïdes) atteint un niveau anormalement élevé, une éosinopénie titrable apparaît dans les heures qui suivent. Ceci a permis à Thorn (49) et ses Coll. de mettre au point un test qui, après sollicitation spécifique ou non du cortex surrénal, mesure la réponse de cette glande à l'intensité de la diminution du nombre des polynucléaires éosinophiles dans les heures qui suivent (13).

Parmi les facteurs qui influencent la production de corticostéroïdes nous citerons la stimuline anté-hypophysaire spécifique ou hormone corticotrope, l'adrénaline dont la spécificité est discutée, des produits du métabolisme (adrénochrome, hyperglycémie, hypoglycémie), des facteurs mixtes (agression ou stress).

Dunger (Allemagne) (16), proposa en 1910 une méthode de numération directe des polynucléaires éosinophiles avec une dilution éosino-acétone.

Evans, en 1929, ouvre les possibilités d'étude expérimentale des relations hypophyso-surrénales en se servant comme critère de l'hypertrophie de la glande surrénale provoquée par l'injection des premiers extraits d'anté-hypophyse. La même année, Jausion, Hugonot et Sohier signalent une éosinopénie consécutive à l'injection d'adrénaline. Puis Vat Sueda constate une chute éosinophilique après injection d'histamine suivie par une décharge d'adrénaline (Housssay, Molinelli).

En 1937, Aszodi (2) observe une augmentation des polynucléaires éosinophiles consécutive à une hypervitaminose C. En 1942, Adam note que l'adrénaline et l'atropine changent le compte des éosinophiles quand leur nombre est augmenté par un état allergique ; pendant que Dalton et Selye observent une diminution des polynucléaires éosinophiles pendant « la réaction d'alarme ». Enfin en 1947, Hills, Forsham, Finch (19) utilisent l'hormone corticotrope et observent une éosinopénie importante, une lymphopénie et une polynucléose neutrophile.

En 1948, Thorn, Forsham, Hills, Prunty, Regant (51) mettent l'accent sur la fidélité de l'effet éosinopéniant et proposent la numération des polynucléaires éosinophiles avant et quatre heures, après l'injection d'hormone corticotrope (test de Thorn n° 1) ou d'adrénaline (test de Thorn n° 2).

La technique des épreuves de Thorn (50) peut se schématiser ainsi : au malade, laissé à jeûn depuis la veille, on prélève du sang par voie veineuse sur un tube oxalaté séché et on injecte le stimulant, ensuite on mesure directement le nombre des polynucléaires éosinophiles par la méthode de Dunger (16) ou de Randolph (36). Quatre heures après on prélève de nouveau du sang, dans les mêmes conditions que la première fois, et on mesure de nouveau le nombre de polynucléaires. La variation est calculée en % et le sens de la variation est exprimé par les signes plus ou moins selon qu'il y a augmentation ou diminution. (Pour de plus amples détails nous renvoyons le lecteur à la thèse d'André Bezon (6).

On sait peu de choses sur la formule chimique de l'hormone corticotrope, ses propriétés hormonales sembleraient liées à une fraction peptidique des extraits protidiques de l'hypophyse antérieure (Morris). Outre son pouvoir de contrôle sur la maturité et la capacité de mitose des lymphocytes (Robertson (38), l'hor-

mone corticotrope exalterait toutes les fonctions cortico-surrénaliennes, diminuerait la teneur en acide ascorbique du cortex surrénal (KUTCHELL et MITCHELL) (26), SAYERS (44), provoquerait une alcalose sanguine, un catabolisme exagéré, une rétention hydrosaline, une augmentation de l'élimination des cortico-stéroïdes et des 17-céto-stéroïdes.

L'augmentation de l'élimination des 17-céto-stéroïdes a servi de base à de nombreux travaux (31-34) ; on a pu ainsi constater que les variations subies par le taux des 17-céto-stéroïdes étaient proportionnelles à la quantité d'hormone corticotrope injectée (42). Les méthodes employées pour la détermination du taux des 17-céto-stéroïdes peuvent être chromatographiques (26-32) ou colorimétriques et sont basées sur la réaction de ZIMMERMAN (11-23). Parmi les méthodes colorimétriques celle que le Docteur VALENSI (15) a mise au point, dans le laboratoire de chimie présente l'avantage d'utiliser une prise d'essai de cinq centimètres cube de sang ou d'urine ; cette réduction de la prise d'essai permet d'effectuer des dosages des 17-céto-stéroïdes du sérum sanguin (54) dont on ne connaissait l'existence que par des essais biologiques sur la crête de chapon par exemple (28).

A la lumière des nombreuses analyses effectuées sur des sérums humains il ressort que la 17-céto-stéroïdémie est particulièrement constante ; chez l'homme normal son taux varie entre 9,5 mg. et 9,8 mg., et entre 8,4 mg. et 8,8 mg. chez la femme. On a pu également constater que la 17-céto-stéroïdémie subissait de grandes variations au cours de maladies graves, infectieuses ou endocrinologiques, et pouvait atteindre 5 mg. pour une insuffisance surrénale accompagnée d'impuissance alors que son taux s'élevait jusqu'à 22 mg. pour un cas d'hirsutisme. La 17-céto-stéroïdémie varie aussi sous l'influence de la stimuline corticotrope comme on a pu le voir chez des nourrissons atteints de toxicose et traités par cette hormone (54).

Il ressort de cette brève revue sur la biochimie des 17-céto-stéroïdes que la sécrétion de ces corps est soumise à de nombreuses influences en relation avec d'autres hormones et que les variations de l'activité des glandes sexuelles ou cortico-surrénales, posent d'importants problèmes physiologiques et pathophysiologiques. Par ailleurs, on ne peut dissocier les inter-actions des

diverses hormones, aussi bien il nous paraît utile d'examiner rapidement le rôle des différentes glandes endocrines en nous efforçant de faire ressortir les relations de la plupart d'entre elles avec la sécrétion des 17-céto-stéroïdes. La première de ces glandes (l'hypophyse) que nous examinerons présente une importance prépondérante dans le cadre de la question qui nous intéresse, puisqu'elle tient sous sa dépendance le fonctionnement de la plupart des autres. Cela justifie la nécessité de ne pas demeurer étranger à l'étude, tout au moins sommaire, de l'ensemble du système endocrinien. C'est la raison pour laquelle nous présentons ci-après une modeste mise au point sur la biologie des glandes endocrines.

RELATIONS ENTRE LES HORMONES STEROIDES ET L'ENSEMBLE DU SYSTEME ENDOCRINIEN

a) - Hypophyse.

L'*hypophyse* en tant que facteur d'équilibre joue un rôle primordial dans l'organisme. Si son ablation ne provoque pas une mort foudroyante on observe toutefois un arrêt de la croissance, des perturbations métaboliques, des transformations plus ou moins grandes des glandes endocrines. Son action sur la croissance serait due à une hormone du lobe antérieur : l'hormone somatotrope. L'action métabolique est le fait non seulement d'hormones spécialisées (hormone diabétogène de Houssay dont l'injection répétée amène les symptômes du diabète, hormone glycogénolytique, qui diminue le taux du glycogène hépatique, hormone acétonémiante qui transforme les corps gras en corps cétoniques) mais aussi des stimulines anté-hypophysaires. Les principales stimulines anté-hypophysaires sont les hormones corticotrophe, thyréotrope, parathyréotrope, thymotrope, pancréatotrope, gonadotrope et la prolactine. Ces stimulines régularisent les diverses fonctions de l'organisme selon un processus réversible. L'hormone anté-hypophysaire excite d'abord la glande correspondante. Celle-ci répond par la production d'hormones qui, à partir d'un taux maximum, vont à leur tour inhiber la production de stimuline hypophysaire. L'hormone thyréotrope, par exemple, provoque la formation, par le corps thyroïde, de

thyroglobuline qui en retour inhibe la production de thyréotrophine par l'anté-hypophyse.

Nous citerons seulement les hormones post-hypophysaires, vagopressine, adiurétine et hormone ocytocique.

b) - Le corps thyroïde.

Après l'ablation du corps thyroïde on observe chez le jeune un ralentissement de la croissance et de l'ossification, un retard dans le développement des organes sexuels, un épaississement de la peau, un appauvrissement du système pileux, une diminution de la température du corps et un retard intellectuel notable. Chez l'adulte on observe une diminution du tonus et de l'activité musculaire, un ralentissement de la fonction sexuelle, une sécheresse de la peau, une chute des poils et un œdème préthyroïdien. Par son hormone, la thyroglobuline, dont sont emplies les vésicules, le corps thyroïde régularise le métabolisme général (augmente le métabolisme de base), active l'ossification et les métamorphoses, augmente la résistance de l'organisme. L'hormone hypophysaire thyréotrope provoque l'hyperplasie de la glande thyroïde, inversement l'hypophysectomie entraîne une diminution du volume de la glande thyroïde et inhibe l'action des agents excitateurs. Malgré les relations qui existent entre la glande thyroïde et les fonctions sexuelles, la surrénalectomie et la castration ne produisent aucun effet frappant (il en est de même après parathyroïdectomie et thymectomie).

c) - Les para-thyroïdes.

Après *parathyroïdectomie* apparaissent les symptômes de tétanie parathyréoprive, dus à une diminution considérable de la calcémie accompagnée d'une élévation du taux du phosphore minéral sanguin. On note également une diminution de l'acide créatine phosphorique qui reparaît très lentement dans le muscle après l'effort. La parathormone règle la distribution du calcium dans le sang et les tissus, favorise la croissance du squelette, augmente l'excitabilité musculaire, maintient le pH sanguin et le rapport ionique. L'ablation du pancréas provoque l'atrophie des parathyphoïdes. La parathyroïdectomie diminue la tolérance au glycose. L'injection de parathormone provoque une hyperplasie des îlots de Langerhans. L'ablation du lobe antérieur conduit à l'atrophie des parathyroïdes.

d) - Le thymus.

Après l'ablation du *thymus*, on observe des troubles du développement général, de la nutrition, de la formation du squelette (réduction de la taille et du volume des os) et du système nerveux (idiotie thymoprive). Rowntree et Coll. (1935) ont étudié sur des rats l'action des extraits de thymus sur l'accélération de la croissance. L'excitation du cortex surrénal ou un taux élevé de corticoïdes, folliculoïdes, lutéoïdes, testoïdes, provoque une involution du thymus. Inversement la surrénalectomie et la castration amènent l'hyperplasie du thymus. On n'a isolé aucune hormone.

e) - Le pancréas.

La *pancréatectomie* fait naître les symptômes du diabète sucré à forme grave qui se manifeste par de la polyurie, polyphagie, polydypsie, avec amaigrissement et asthénie, une élévation de la glycémie, de la glycosurie ; dans les cas graves apparaissent l'acétonémie et l'acidose. Les deux hormones pancréatiques sont l'insuline et la vagotonine. L'insuline a une action antagoniste de celle de l'adrénaline et de l'hormone diabétogène (anté-hypophysaire). La vagotonine est sans action après la section du pneumogastrique, elle diminue l'excitabilité des nerfs splanchniques et abaisse le tonus sympathique.

f) - Les testicules.

La castration, chez le coq, entraîne une augmentation de la taille, une diminution de la teneur en glycogène du muscle, une tendance à l'obésité. La crête devient petite, exsangue, le plumage et les ergots ne sont pas touchés, l'instinct de combativité disparaît. Chez l'homme jeune la castration se manifeste par la persistance des cartilages de conjugaison. Les eunuques ont une taille élevée, un bassin évasé, un visage glabre ; leur larynx ne s'accroît pas et leur voix reste grêle ; leur caractère est apathique, leur instinct sexuel nul. On peut rétablir les caractères secondaires par injection d'hormones qui sont la testostérone et l'androstérone. Après hypophysectomie on note une atrophie testiculaire marquée, due à l'absence des hormones gonadotropes A et B. L'hormone gonadotrope A répare l'atrophie testiculaire mais n'a aucune action sur l'animal intact car son plafond de stimulation est vite atteint. L'hormone gonadotrope B stimule même chez l'animal intact la prolifération des glandes intersticielles.

g) - Les ovaires.

Le fonctionnement des organes génitaux femelles est sous la dépendance d'hormones ovariennes qui sont au nombre de deux : l'œstrone découverte par BUTENANT (10) et DOISY (14) qu'on trouve dans le liquor folliculi qui provoque la prolifération utérine (myomètre et endomètre) mais ne peut déterminer les transformations prégravidiques de l'endomètre, et la progestérone (corps jaune) qui transforme la muqueuse hyperplasiée par l'œstrone en endomètre prégravidique en dentelle et assure la fixation de l'œuf fécondé. Les hormones hypophysaires ou gonadotrophines A et B règlent la sécrétion des hormones ovariennes. La gonadotrophine A en présence d'une petite quantité de gonadotrophine B provoque la formation de folliculine. La gonadotrophine B entraîne l'apparition du corps jaune avec ovule inclu ce dernier est libéré grâce à l'intervention de petites quantités de gonadotrophine A, la sécrétion de prolactine est indispensable pour amener la sécrétion de la progestérone. On voit le rôle de ces hormones hypophysaires qui règlent le cycle œstral, la puberté et la ménopause. Les hormones placentaires, elles, régissent la grossesse. Lorsque l'œuf est fécondé le corps jaune subsiste, il se forme un appareil nouveau dans lequel intervient la mère par son endomètre utérin et le fœtus par sa membrane allantoïdienne c'est le placenta.

h) - Le placenta.

Le placenta sécrète de nombreuses hormones parmi lesquelles les prolans A et B éliminés dans l'urine (réaction de Brouha) dont l'action est superposable aux gonadotrophines A et B. L'hypophysectomie pratiquée au cours de la seconde partie de la grossesse n'interrompt pas celle-ci. Ces prolans disparaîssent pendant les préparations des extraits placentaires par suite d'une ébullition. L'introduction en thérapeutique des extraits placentaires dont les indications sont voisines de celles de l'hormone corticotrope, soulève à nouveau la question du rôle hormonal joué par cet organe. Le placenta contient des quantités notables d'œstrogènes. Quant à la présence d'une substance dont l'action est analogue à celle de la corticotrophine on a observé que l'extrait acétonique d'un placenta de femme enceinte, atteinte de maladie d'Addison, est capable de ramener à l'état normal les

surrénales d'un rat hypophysectomisé (Jeiler et Knowlton 1950 (24), et que l'animal fécondé supporte bien mieux l'hypophysectomie que l'animal non fécondé (Gardner et Allein, 1949). On a également observé une amélioration très nette chez la femme enceinte atteinte de polyathrite (Hench, 1929) et que les tests de Thorn (50) et de Sayers (45) sont positifs chez les sujets traités par des préparations placentaires. De nombreux cas de rhumatismes, de maladies du collagène, de psoriasis ont été rapportés dans lesquels la grossesse apporte une guérison, quelquefois transitoire, mais parfois aussi durable.

A côté des hormones d'origine endocrine il existe des substances hormonales produites par des organes exocrines (glandulaires ou non glandulaires) dont le rôle dans l'équilibre humoral n'est pas négligeable ; nous citerons simplement les principales qui sont : la rénine du rein, les hormones gastro-intestinales dont le principe anti-anémique de Castle, l'histamine, l'acétylcholine, les hormones hépatiques surtout le principe anti-anémique de Whiple et l'héparine, les facteurs favorisant la cicatrisation des plaies et les anti-hormones.

Nous ne pouvons clore ce bref aperçu sur la physiologie des glandes endocrines sans consacrer au moins quelques lignes au « syndrome général d'adaptation » (47).

L'organisme, grâce au fonctionnement des glandes surrénales, est en mesure de lutter contre toutes les agressions ou stress (infections microbiennes, traumatismes, hémorragies, intoxications, chocs émotionnels...). Si le stress est important, le « syndrome général d'adaptation » comprend trois temps : la réaction d'alarme, la période de résistance, la période d'épuisement. Au cours de ces trois phases la physiologie des différents systèmes de l'organisme subit de graves perturbations que Selye (48) désigne par les termes de « phénomènes systémiques non spécifiques ». Par exemple le métabolisme général diminue pendant la période d'alarme, augmente ensuite pendant la période de résistance, pour diminuer encore pendant la phase d'épuisement. On observe également une augmentation de la sécrétion d'hormone corticotrope à l'exclusion des autres hormones hypophysaires traduite par une éosinopénie et une lymphopénie. On a décelé dans le cœur la présence de nodules fibreux identiques

à ceux de Aschoff, et dans le système digestif d'ulcères, notamment les ulcères de Curling qui apparaissent après les brûlures. Le pancréas et le foie involuent, les 17-céto-stéroïdes diminuent, augmentent et enfin s'épuisent. On peut dire que la réaction d'alarme englobe tous les phénomènes physiologiques non spécifiques produits par une exposition brutale à un stimulus auquel l'organisme n'est ni qualitativement ni quantitativement adapté. La période de résistance comprend toutes les réactions physiologiques non spécifiques produites par une exposition prolongée à un stimulus auquel l'organisme a acquis une adaptation. La période d'épuisement représente toutes les réactions physiologiques non spécifiques qui se développent ultérieurement comme le résultat d'une exposition très prolongée à un stimulus auquel l'adaptation a été acquise mais ne pourrait plus longtemps être maintenue.

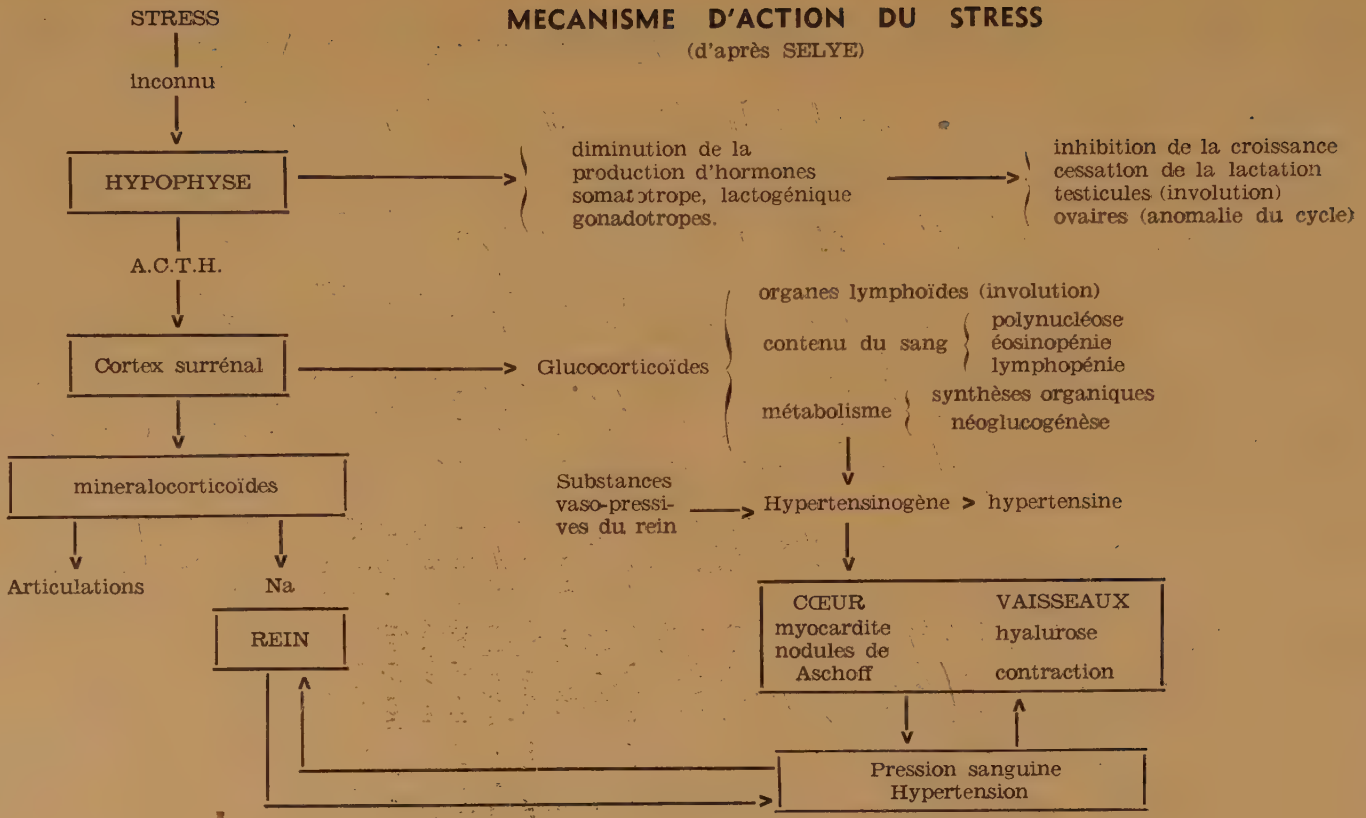
L'hypophysectomie et la surrénalectomie rendent les stress sans effet.

Le tableau p. résume les principaux phénomènes physiologiques observés au cours d'un stress. On peut les expliquer ainsi : le stress, selon un processus encore inconnu alarme l'hypophyse qui diminue aussitôt sa production d'hormones somatotrope, lactogénique et gonadotropes. D'où la croissance est ralentie ou inhibée, la lactation cesse au cours d'un allaitement, on observe une involution des organes génitaux mâles et des anomalies du cycle ovarien. Par contre, la quantité de corticostimuline hypophysaire (A.C.T.H.) augmente et excite le cortex surrénal qui augmente aussitôt sa production de gluco-corticoïdes et de minéralo-corticoïdes.

Les gluco-corticoïdes provoquent l'involution et la destruction des organes lymphoïdes (thymus) avec apparition dans le sang et les urines d'une quantité d'acide urique élevée. Dans le sang on observe de la lymphopénie, de l'éosinopénie et de la polynucléose. Le métabolisme général, notamment les synthèses organiques (néo-glucogénèse), est perturbé. D'une façon générale, on peut dire que le métabolisme diminue et augmente à nouveau pendant la phase d'alarme ; se maintient à un niveau élevé pendant la période de résistance et s'effondre au stade d'épuisement. Au cours de ces réactions, le volume du foie diminue et le taux du

MECANISME D'ACTION DU STRESS

(d'après SELYE)



glycogène hépatique tend vers zéro, la néo-glucogénèse devient alors très active. La transformation de l'hypertensinogène hépatique en hypertensine active dans le sang est accélérée. On constate par ailleurs que le temps de coagulation du sang est diminué. Le système cardio-vasculaire subit des transformations importantes (hypertension, thromboses post-opératoires, infarctus...). L'augmentation du taux des minéralo-corticoïdes s'accompagne d'une altération du métabolisme des électrolytes : la quantité de potassium intracellulaire augmente ; le taux du chlore diminue. Une rétention de l'ion sodium apparaît qui a pour conséquence immédiate d'augmenter la pression intra-rénale. Le rein, dont les tubes glomérulaires se bouchent, se sclérose ; la production de rénine augmente à l'intérieur du rein. La transformation de cette rénine en hypertensine active provoque des troubles vasculaires tels que l'hypertension, des périartérites, des nodules de Aschoff. Le volume sanguin augmente. Au niveau des articulations se forment des arthrites selon un processus mal expliqué.

A côté de ces réactions, on observe des œdèmes pulmonaires, une involution du pancréas, une augmentation du poids du cortex et de sa teneur en vitamine C ; la formation d'ulcères (système digestif). On ne peut passer sous silence le rôle des décharges d'adrénaline (médullo-surrénale) au cours des phases d'alarme sur le système vasculaire (hypertension, sclérose) et sur le métabolisme des glucides. Par conséquent, un stress n'affecte pas seulement un point localisé (brûlures, abcès), mais l'ensemble du système physiologique. Il est alors remarquable de constater la solidarité qui unit les différents systèmes physiologiques pour une défense commune de l'organisme. Cette révélation est importante pour la thérapeutique dont les efforts devront tendre à rétablir l'équilibre rompu et éviter les thérapeutiques dissociées.

OBJET DU TRAVAIL

Nous avons vu dans l'introduction les liens étroits qui unissent, du point de vue physiologique, les 17-céto-stéroïdes neutres et les autres systèmes glandulaires (particulièrement avec l'hypophyse). Nous avons également remarqué l'incertitude qui persiste sur l'origine anatomique de ces 17-céto-stéroïdes et sur leur localisation. Nous avons donc essayé de mettre en évidence la présence de ces corps dans quelques tissus frais (placenta) et dans des poudres d'organe. On connaît l'engoûment que les poudres opothérapiques suscitèrent autrefois. L'absence de techniques pratiques pour évaluer la teneur en hormone de ces poudres les fait abandonner de plus en plus. Aussi la présence de 17-céto-stéroïdes neutres dans une poudre d'organe serait très intéressante car, non seulement elle prouverait l'existence de ces corps dans l'organe correspondant, mais surtout pourrait fournir un test d'activité pour cette poudre.

Après ces recherches sur les 17-céto-stéroïdes tissulaires, nous nous sommes proposé d'étudier les relations hypophyso-cortico-surrénaliennes en fonction des variations subies par la 17-céto-stéroïdémie (12) après sollicitation spécifique par la cortico-stimuline hypophysaire. Nous avons fait également des essais similaires avec des préparations placentaires afin de mettre en évidence l'activité corticotrophique de ces préparations.

En résumé, nous avons :

1° - déterminé la teneur en 17-céto-stéroïdes neutres des principales poudres opothératiques ;

2° - nous avons suivi les variations de la 17-céto-stéroïdémie chez le chien consécutivement à l'injection de cortico-stimuline hypophysaire (A.C.T.H.) ;

3° - nous avons suivi les variations de la 17-céto-stéroïdémie consécutivement à l'injection d'extrait placentaire.

RECHERCHES PERSONNELLES

TENEUR DES TISSUS ET DES POUDRES OPOTHERAPIQUES EN 17-CETO - STEROIDES

L'utilisation en thérapeutique des organes frais présente des difficultés pratiques et économiques qui leur font préférer les poudres d'organe. Les organes sont récoltés dans les abattoirs, d'où après contrôle sanitaire, le personnel appartenant à l'industrie opothératique, les transporte au laboratoire avec les précautions nécessaires pour éviter l'altération par les microbes, les phénomènes d'autolyse, la formation de toxines et ptomaïnes difficiles à éliminer ultérieurement. Les poudres doivent être obtenues par dessication puisque c'est un des seuls moyens possibles de conserver dans leur intégrité les principes des organes animaux. La conservation des organes, au cours de la préparation, par addition de composés chimiques est interdite, elle doit être assurée par congélation précoce, rapide et profonde.

Les essais préconisés par le Codex pour les poudres d'organe sont donc le dosage de l'humidité, le poids des cendres, la recherche des antiseptiques (bore, fluor, formol, ferments oxydants), la recherche et le dosage des sucres (amidon, dextrine), le dosage de l'azote total et du phosphore total, le dosage des lipides, l'examen microscopique et bactériologique, la détermination du pH et du pouvoir tampon. Quant au dosage chimique de l'activité hormonale, seuls ceux de l'iode (thyroïdine) et de l'adrénaline (surrénine) sont réalisables, les autres hormones sont titrées au moyen de tests biologiques. La composition des poudres opothérapiques dépendant de l'espèce choisie, de l'âge de l'animal et des traitements subis au cours de la préparation, un dosage chimique simple et précis de l'activité d'une poudre par rapport à sa teneur en hormone serait à la fois plus pratique et plus précis que les essais codifiés par la pharmacopée qui recherchent simplement les fraudes et vérifient l'état de conservation du produit.

Nous avons donc essayé d'adapter à l'étude des poudres, la méthode mise au point dans le laboratoire de chimie (15) pour doser les 17-céto-stéroïdes urinaires. La technique que nous avons utilisée est la suivante : dans un tube à centrifuger d'environ 60 cm3 et muni d'un rodage, introduire 5 cm3 d'urine puis 0,5 cm3 d'une solution 12 N d'acide sulfurique. Placer sur le tube un bouchon rodé porteur d'une canne de verre de 20 à 30 cm. de long destiné à servir de réfrigérant à reflux. Maintenir le tube pendant 15 minutes dans un bain-marie d'eau bouillante. Au bout de ce temps, refroidir le tube et en neutraliser le contenu par addition d'un gramme de carbonate de calcium ajouté par petites portions et en agitant à l'aide d'une épaisse baguette de verre. Ajouter ensuite 10 gr. de sulfate de sodium anhydre. Malaxer fréquemment avec la baguette de verre. Le sulfate de soude cristallise peu à peu($SO_4 Na_2 + 10 H_2O = SO_4 Na_2, 10 H_2O$) et le contenu du tube prend l'aspect d'une masse sèche pulvérulente. En été, il est avantageux de refroidir extérieurement le tube pour accélérer cette prise en masse. Ceci étant réalisé, ajouter 30 cm3 d'éther exempt de peroxydes. Broyer la masse sous l'éther, retirer l'agitateur que l'on déposera sur un verre de montre. Boucher le tube avec son bouchon rodé et agiter très vigoureusement. Centrifuger à une vitesse réduite (on peut se contenter de laisser déposer). Filtrer la couche éthérée sur un petit filtre à plis en recueillant le filtrat dans une ampoule à décantation de 100 cm3. Reprendre la masse cristalline par 10 cm3 d'éther purifié ; malaxer, agiter, centrifuger, filtrer et recueillir l'éther dans l'ampoule. Renouveler cette opération avec 10 cm3 d'éther. Introduire alors dans l'ampoule 5 cm3 d'une solution de potasse à 15 p. 100. Agiter avec précaution pour éviter les émulsions. Eliminer la couche aqueuse alcaline par le robinet inférieur. Laver deux fois la liqueur éthérée avec 10 cm3 d'eau distillée. Transvaser l'extrait éthéré dans un ballon à extraction de 100 cm3 en lavant l'ampoule avec une petite quantité d'éther pur. Chasser l'éther par distillation au bain-marie. Dessécher le contenu du ballon en achevant la distillation sous pression réduite. Après refroidissement complet du ballon, y introduire successivement : 0,2 cm3 d'alcool à 96° exempt d'aldéhyde que l'on fera courir sur les parois du ballon ; 0,2 cm3 d'une solution à 2 g. p. 100 de m. dinitro-benzène dans l'alcool exempt d'aldéhyde ; 0,2 cm3 d'une solution aqueuse de potasse 5N. Après mélange, abandonner les

ballons bouchés pendant 105 minutes à l'obscurité dans un thermostat réglé à la température de 25°C. Au bout de ce temps, ajouter 5 cm3 du mélange constitué par 30 cm3 de glycérine et 70 cm3 d'alcool à 96°C. ordinaire. Procéder à la détermination colorimétrique au bout de 3 minutes avec l'appareil dont dispose le laboratoire.

Pour le dosage des stéroïdes sanguins, une seule modification est indispensable : après élimination de la solution de potasse à 15 p. 100 le premier lavage de la liqueur éthérée est effectué au moyen de 10 cm3 d'une solution aqueuse saturée de sulfate acide de potassium (SO_4KH). En effet, dans le cas du sang, l'emploi de l'eau distillée donne lieu à ce moment à la formation d'une émulsion d'aspect gélatineux rendant la séparation des phases liquides impossible même après un repos très prolongé. Par contre le dernier lavage sera facilement exécuté au moyen de 10 cm3 d'eau distillée. Il est important de souligner que nous avons vérifié que la quantité importante de cholestérol, fatalement présent dans l'extrait final, n'interfère nullement au cours de la réaction de ZIMMERMAN (57).

La qualité de l'éther et de l'alcool utilisés a une importance primordiale : ils doivent être exempts de peroxydes et d'aldéhydes. En effet, l'entraînement de ces corps dans le résidu final d'extraction est la cause de perturbations dans l'évolution de la réaction de ZIMMERMAN. Celles-ci consistent en la production d'une coloration brun-rougeâtre dont l'intensité peut interférer considérablement avec celle de la coloration rose due aux seuls stéroïdes. En pareil cas, il devient illusoire de chercher à tenir efficacement compte de ces colorations parasites par soustraction de l'absorption lumineuse observée sur un essai témoin. Il est donc indispensable de mettre en œuvre de l'éther et de l'alcool purifiés spécialement au laboratoire selon les procédés suivants :

— Pour l'éther : dans un flacon de 2 litres introduire 200 cm3 d'une solution à 10 % de sulfate ferreux, puis 20 g. de limaille de fer et enfin 1 litre d'éther de commerce. Agiter. Au bout d'au moins 24 heures de contact, distiller, au moment de l'emploi, la quantité d'éther nécessaire aux essais à effectuer. La solution ferreuse sera renouvelée lorsqu'elle aura été en contact avec 10 litres d'éther environ.

— Pour l'alcool : à 100 cm3 d'alcool, ajouter 2 g. de zinc en poudre et 2 g. de potasse en pastille. Chauffer 20 minutes sous réfrigérant à reflux et distiller. Utiliser cet alcool dans le courant d'une semaine.

Pour établir, à partir de déhydro androstérone, les graphiques de référence relatifs à l'emploi de l'électrophotomètre, nous avons préparé une solution mère de 15 mg. de déhydro androstérone pure dans 20 cm3 d'alcool purifié. Au moyen d'alcool purifié on prépare une série de dilutions contenant de 30 à 150 mg. de ce céto-stéroïde dans 0,2 cm3 sur lesquels on effectue la réaction de ZIMMERMAN. L'essai témoin est effectué en remplaçant les 0,2 cm3 de solution de stéroïdes par 0,2 cm3 d'alcool purifié. Le tableau ci-dessous contient les données qui permettent d'établir le graphique de référence qui est une droite.

TABLEAU I

Exemple d'étalonnage de la méthode de dosage des 17-céto-stéroïdes

DILUTION		Déhydro-androstérone gamma dans prise d'essai	Extinction (1) électrophotomètre (Jean et Constant) Cuve de 1
cm3 de solution mère	cm3 d'alcool		
1	4	30	30
2	3	60	47
3	2	90	70
4	1	120	94

(1) Soustraction faite de l'extinction propre à l'essai témoin.

Pour le dosage des poudres opothératiques, nous avons choisi une prise d'essai de 1 g. en suspension dans 5 cm3 d'eau distillée et nous avons opéré selon la technique décrite précédemment pour le sérum sanguin. Les poudres opothérapiques étant des produits très hygroscopiques, il nous a paru nécessaire de déterminer la quantité d'azote total de chaque poudre (après minéralisation par la méthode de KJELDAHL) afin d'établir un lien de comparaison entre les différentes poudres que nous avons considérées. Nous donnons, ci-dessous, un tableau dans lequel sont consignés les résultats obtenus avec les échantillons considérés.

TABLEAU II

Teneur des poudres opothérapiques en azote total (gr. p. 100) en 17-céto-stéroïdes (mg. pour 100 gr. de poudre). Les résultats sont également exprimés en mg. pour 100 grammes d'azote.

POUDRES	Teneur en N % g. poudre	Teneur en 17-céto-stéroïdes pour 100 g. de poudre	Teneur en 17 céto-stéroïdes pour 100 g. de N
Surrénine	8.70 g.	17.00 mg.	195 mg.
Hépatine	7.10 g.	11.70 mg.	165 mg.
Rénine	5.90 g.	6.20 mg.	105 mg.
Pancréatine	6.40 g.	5.70 mg.	89 mg.
Ovarine	11.90 g.	7.90 mg.	66.3 mg.
Orchitine	11.00 g.	6.90 mg.	63 mg.
Thymusine	12.00 g.	7.00 mg.	59 mg.
Thyroïdine	9.80 g.	4.70 mg.	47 mg.
Para-thyroïdine ..	12.20 g.	4.20 mg.	34.4 mg.

L'examen des résultats consignés dans ce tableau nous fournit des renseignements très intéressants. Premièrement il nous permet de constater la présence de 17-céto-stéroïdes dans chaque poudre d'organe analysée. De plus, si l'on considère la teneur en 17-céto-stéroïdes pour cent grammes d'azote, on trouve que la surrénale arrive en tête avec 196 mg. p. 100 ; on sait en effet que cette glande est un gros producteur de 17-céto-stéroïdes. Le foie ensuite, avec 165 mg. p. 100 nous prouve l'importance du rôle qu'il joue dans le métabolisme de ces hormones. Quant au 105 mg. p. 100 du rein, ils sembleraient surtout dus à la présence des capsules surrénales mal enlevées au cours de la préparation de la poudre. Puis vient le pancréas avec 89 mg. p. 100. Les organes génitaux mâles, femelles et le thymus pour des valeurs presque identiques, se montrent pauvres en 17-céto-stéroïdes comparativement à ce que l'on pouvait espérer surtout des testicules. Enfin la thyroïde et les parathyroïdes se révèlent assez pauvres en 17-céto-stéroïdes. Il est intéressant de noter que la teneur en 17-céto-stéroïdes calculée pour cent grammes d'azote confirme les notions, que nous possédons, sur la physiologie de ces glandes ; en outre, elle permet d'éliminer les erreurs produites par le degré hygroscopique plus ou moins élevé de ces poudres, par exemple la rénine dont le taux de 17-céto-

stéroïdes est de 6,20 mg. pour cent grammes de poudre, s'élève à 105 mg. pour cent grammes d'azote. Par conséquent, le dosage des 17-céto-stéroïdes nous permet d'apprécier l'activité des poudres et leur état de conservation, ceci pourrait constituer un essai de ces poudres particulièrement recommandé pour la surrénine, qui est le plus gros producteur de ces hormones.

Après les poudres opothérapiques, nous avons essayé de déterminer la teneur en 17-céto-stéroïdes de quelques placentas frais, selon la méthode employée pour les poudres. Les résultats sont exprimés en mg. par kilog de placenta frais dans le tableau suivant.

TABLEAU III

Teneur en 17-céto-stéroïdes de quelques placentas humains exprimés en mg. par kilog de placenta frais.

PLACENTAS	Teneur en 17-céto-stéroïdes mg. par kg.
N° 1	12,00 mg. par kg.
N° 2	21,50 mg. par kg.
N° 3	20,00 mg. par kg.
N° 4	20,60 mg. par kg.

De l'examen de ce tableau, il ressort que le placenta contient des 17-céto-stéroïdes, ce qui confirme les notions que nous possédions sur l'activité endocrinienne de cet organe. Si on tient compte du fait qu'une poudre opothérapique représente le cinquième du poids de l'organe initial, la teneur en 17-céto-stéroïdes des poudres obtenues avec les quatre placentas précédents serait respectivement de 6 mg., 10 mg., 10 mg., 10 mg., pour cent grammes de poudre. Par conséquent, le placenta pourrait se classer comme producteur de 17-céto-stéroïdes entre le foie et le pancréas.

Pour terminer ce chapitre, nous signalerons la présence de 17-céto-stéroïdes dans le lait humain (Mariano Rossi) (27), dans le plasma périphérique (29), dans le fluide amniotique (22), dans le foie de veau (43) et dans le sperme humain (21).

VARIATIONS DES 17-CETO-STEROIDES SOUS L'INFLUENCE DE LA CORTICOTROPHINE HYPOPHYSAIRE

Nous avons déjà souligné l'importance du rôle joué par la corticotrophine au cours des différentes étapes de la vie physiologique (30). Son emploi répandu en thérapeutique pose des problèmes importants concernant son action (55) et ses répercussions. Après les travaux (17) de THORN (50), SAYERS (46), qui mirent au point des tests qui portent leur nom et permettent de mesurer la réponse du cortex surrénal à l'excitation hypophysaire, les recherches s'orientent actuellement vers le dosage des 17-céto-stéroïdes éliminés dans les urines. Ces dosages permettent évidemment d'évaluer la réponse cortico-surrénalienne, mais ne donnent aucun renseignement sur le temps écoulé entre l'excitation par la corticostimuline et la réponse surrénalienne. De plus, l'excrétion des 17-céto-stéroïdes par l'urine (34) peut, au cours des différentes réactions métaboliques, subir de grandes variations qui fausseront l'interprétation des résultats. Aussi semblait-il plus logique de substituer au dosage des 17-céto-stéroïdes urinaires l'étude des variations de la 17-céto-stéroïdémie. Les 17-céto-stéroïdes étant des corps qui s'éliminent rapidement, on peut essayer d'observer les phases croissantes et décroissantes du processus hormonal.

Nous avons choisi le chien comme animal d'expérience et nous avons opéré de la façon suivante : après avoir recueilli la quantité nécessaire de sang témoin, nous avons injecté par voie intra-veineuse la corticotrophine à raison d'une unité par kilog, et prélevé du sang à intervalle régulier pour pouvoir mettre en évidence l'action de l'hormone. Pour ne pas soutirer à l'animal de trop grandes quantités de sang, c'est sur le sang total défibriné par agitation, et non sur le sérum, que nous avons fait les dosages. Le tableau suivant donne les résultats obtenus chez quelques chiens.

TABLEAU IV

Valeurs de la 17-céto-stéroïdémie (mg. pour 1.000 cm3) déterminée à des temps différents après une injection d'une unité d'A.C.T.H. par kilog de poids corporel chez le chien

TEMPS APRES L'INJECTION	NUMERO et POIDS du CHIEN							
	I 11 kg. (mg.)	II 18 kg. (mg.)	III 12,5 k (mg.)	IV 16 kg. (mg.)	V 8 kg. (mg.)	VI 8 kg. (mg.)	VII 10 kg. (mg.)	VIII 14 kg (mg.)
0 h. 00 min. avant l'injection	4.60	7.60	7.40	5.20	8.20	5.00	6.60	6.60
0 h. 30 min.		8.00	8.60					
1 h. 00 min.		7.60	8.40		9.60			6.20
1 h. 30 min.		8.00	9.60					
2 h. 00 min.	8.75	8.20	10.00		10.20	7.80	5.80	7.10
2 h. 30 min.							5.80	
3 h. 00 min.				6.60		6.60	8.20	7.60
3 h. 30 min.				8.80				
4 h. 00 min.	4.40			8.40		6.80	11.80	7.40

De l'examen de ces résultats, il ressort que l'injection de cortico-stimuline hypophysaire provoque toujours une nette élévation du taux des 17-céto-stéroïdes neutres circulant avec le sang. L'augmentation observée représente en moyenne 50 pour 100 de la valeur initiale de la céto-stéroïdémie. Celle-ci augmente progressivement et atteint son maximum au bout d'un temps assez variable selon l'animal, mais qui est toujours compris entre deux heures et trois heures trente minutes.

Les variations subies par la 17-céto-stéroïdémie après l'excitation du cortex surrénal par la corticotrophine, se montrent identiques à celles observées sur les polynucléaires éosinophiles au cours du test de THORN. Les modifications subies par le taux des polynucléaires éosinophiles se situent aux environs de 50 % (6) comme pour la 17-céto-stéroïdémie. Pour cette dernière, le maximum se situe entre deux heures et trois heures, au lieu de quatre pour les polynucléaires éosinophiles.

Par conséquent, il semblerait possible d'effectuer le dosage des 17-céto-stéroïdes neutres à la place ou comme vérification du test de THORN.

VARIATIONS DE LA 17-CETO-STEROIDEMIE SOUS L'INFLUENCE DES EXTRAITS PLACENTAIRES

Les résultats obtenus après sollicitation spécifique du cortex surrénal par l'hormone corticotrope nous ont encouragés à poursuivre nos recherches sur les facteurs de variation susceptibles de modifier la 17-céto-stéroïdémie. En effet, l'emploi thérapeutique de ces extraits laisse à penser qu'ils contiennent des facteurs présentant une action comparable à celle de la corticostimuline hypophysaire. Des preuves tangibles concernant l'existence d'une hormone corticotrope dans le placenta ont été d'ailleurs apportées simultanément par Opsahl, Long et Fry (33), Tarrentino (52), qui ont obtenu un test de Sayers positif, ainsi que Aron (1), de Brux et du Boistesselin (9) pendant que Vachon et Cotte (53) obtenaient un test de Thorn positif (3, 4, 7, 8). Mais comme dans le cas de la cortico-stimuline hypophysaire, ces méthodes ne nous fournissent aucun renseignement précis sur le temps écoulé entre l'injection du produit et la réponse du cortex surrénal. Par conséquent, nous avons continué nos expériences sur le chien en étudiant la 17-céto-stéroïdémie en fonction du temps avant et après l'injection d'extrait placentaire.

Nous avons préparé un extrait placentaire aqueux, selon les recherches actuellement en cours au laboratoire. Nous avons extrait au Kumagawa par l'alcool bouillant les placentas humains lyophilisés. Nous avons ensuite chassé l'alcool et repris par du sérum physiologique. Pour réaliser notre extraction, nous avons choisi une quantité correspondante à 250 g. de placenta frais, en sorte que la solution finale soit de 50 cm3 et qu'un cm3 représente 2,50 g. de placenta frais. C'est donc une solution aqueuse dépourvue de protéine, stabilisée par tyndallisation, que nous avons injectée à l'animal. Au cours de nos expériences, nous n'avons d'ailleurs constaté aucune réaction de choc chez le chien. Nous avons d'abord injecté aux premiers chiens une quantité correspondant à 1,25 g. de placenta frais par kilog de poids corporel, puis nous avons augmenté cette dose à 1,875 g. et enfin à 2,50 g. L'augmentation de la quantité de placenta n'a absolument pas affecté l'animal. Nous donnons, ci-dessous, le tableau des résultats obtenus avec les six chiens considérés.

TABLEAU V

Valeurs de la 17-céto-stéroïdémie (mg. pour 1.000 cm3) déterminées à des temps différents après injection d'extrait placentaire dont un cm3 représente 2,50 g. de placenta frais et dont les quantités injectées étaient de 1,25 g., 1,875 g., 2,50 g. par kilog de poids corporel chez le chien.

TEMPS APRES L'INJECTION	NUMERO et POIDS du CHIEN POIDS de PLACENTA INJECTE par Kg. de POIDS CORPOREL					
	I 10 kg. 1,25 g/K	II 14,6 kg. 1,25 g/K	III 14,5 kg. 1,875 g/K	IV 10,5 kg. 2,50 g/K	V 2,50 g/K 15 kg.	VI 15 kg. 2,50 g/K
0 h. 00 min. (av. l'injection)	5,20 mg.	5,00 mg.	4,80 mg.	2,40 mg.	1,20 mg.	2,80 mg.
1 h. 00 min.					2,00 mg.	4,00 mg.
2 h. 00 min.	7,10 mg.	4,80 mg.	4,80 mg.	**4,60 mg.**	**2,60 mg.**	**6,50 mg.**
3 h. 00 min.	**7,80 mg.**	**6,80 mg.**	**6,00 mg.**	3,20 mg.	1,9 mg.	4,40 mg.
4 h. 00 min.			3,00 mg.	3,80 mg.		

De l'examen de ces résultats, il ressort que l'injection d'extrait placentaire provoque toujours une élévation nette du taux des 17-céto-stéroïdes neutres circulant avec le sang. L'augmentation observée représente en moyenne 60 pour 100 de la valeur initiale de la céto-stéroïdémie. Celle-ci augmente progressivement et atteint son maximum aux environs de la troisième heure pour les doses inférieures à 2,50 g. par kilog de poids corporel, alors qu'avec cette dose, son maximum se situe vers la deuxième heure. Il apparaît donc que l'augmentation de la quantité injectée se traduit par une accélération de la réponse cortico-surrénale. De plus, aucun chien ne s'est révélé réfractaire à l'action des extraits placentaires.

Il apparaît aussi que l'extraction du placenta lyophilisé par l'alcool bouillant, permet d'obtenir un extrait caractérisé par une activité physiologique comparable à celle de la cortico-stimuline hypophysaire. En comparant les résultats des tableaux IV et V, il est permis de conclure que les doses de nos extraits placentaires correspondant à 2 g., 2,5 g. de placenta frais présentent une activité comparable à celle de une unité de cortico-stimuline.

Nos résultats viennent donc confirmer les notions acquises en thérapeutique, sur l'activité cortico-trophique du placenta. Il semble, dès lors, possible de substituer les extraits placentaires à la cortico-stimuline hypophysaire à la fois en thérapeutique et au cours du test de Thorn.

CONCLUSIONS

Arrivés au terme de nos recherches, il convient de préciser et de discuter les résultats acquis au cours de notre travail.

Nous avons tenu, dans notre introduction, à dresser un tableau aussi résumé que possible des relations d'ordre physiologique qui existent entre les principales glandes endocrines. Quelles que soient les insuffisances des notions ainsi rappelées, nous pensons cependant avoir fait ressortir un certain nombre de faits susceptibles de justifier l'objet de notre travail.

Dans cet ordre d'idées, les progrès réalisés dans le domaine de l'identification et de l'extraction des hormones, dans un grand état de pureté, a eu pour résultat de faire abandonner de plus en plus, en thérapeutique, l'emploi des poudres sèches d'organe. Néanmoins celles-ci conservent, d'une part, la faveur de beaucoup de praticiens et, d'autre part, demeurent encore une matière première avantageuse et de bonne conservation pour l'extraction des hormones. Aussi bien l'intérêt qui s'attache aux essais et au contrôle pharmaceutique de ces poudres d'organe demeure toujours d'actualité. Nous avons vu que rares sont les essais basés sur un dosage chimique des hormones présentes dans une poudre opothérapique. Nous avons pensé que les 17-céto-stéroïdes pouvaient être caractéristiques de certaines glandes, plus spécialement impliquées dans leur sécrétion leur métabolisme, tel est en particulier le cas des capsules surrénales, des glandes sexuelles, du foie. Mais les stéroïdes étant des constituants universellement répandus dans les cellules, on doit également s'attendre à en trouver une certaine proportion dans la plupart des autres glandes endocrines. C'est pourquoi nous nous sommes attachés à déterminer la teneur en 17-céto-stéroïdes des différentes poudres opothérapiques inscrites au Codex. Pour cela, nous avons utilisé la méthode, mise au point par G. Valensi pour le dosage colorimétrique des 17-céto-stéroïdes sanguins, et basée sur la classique réaction colorée de Zimmerman. L'adaptation de cette technique aux poudres opothérapiques n'a pas soulevé de difficultés, et nous a conduit à des résultats dignes d'intérêt. En effet, comme le permet l'examen du Tableau numéro II (p. oo), nous avons pu noter de

très sensibles différences entre les teneurs en 17-céto-stéroïdes des diverses poudres opothérapiques examinées ; au passage, signalons que la meilleure façon d'exprimer les résultats consiste à les rapporter à la teneur en azote du produit examiné. Nous voyons ainsi que la surrénine se caractérise très nettement par sa richesse particulière en 17-céto-stéroïdes (195 mg. p. 100 g. d'azote), l'hépatine vient ensuite avec un taux de 165 mg. p. 100g. d'azote et enfin, la rénine peut entrer dans le groupe des poudres opothérapiques riches en 17-céto-stéroïdes avec une teneur de 105 mg. p. 100 g. d'azote. Dans ce dernier cas, on peut d'ailleurs se demander s'il ne s'agit pas de stéroïdes apportés par quelques fragments de capsules surrénales, ayant échappé à la dissection du rein. Ces résultats s'accordent bien tout au moins, en ce qui concerne la surrénine et l'hépatine, avec l'activité caractéristique des surrénales et du foie dans le métabolisme des stéroïdes.

Les glandes sexuelles, ovaires et testicules fournissent des poudres qui nous ont surpris par leur teneur moyenne en 17-céto-stéroïdes (65 mg. p. 100 g. d'azote), inférieure à la pancréatine (89 mg. p. 100 g. d'azote). Les thymusine, thyroïdine et parathyroïdine ne sont pas dépourvues de 17-céto-stéroïdes, mais ce sont elles qui en contiennent le moins avec des teneurs de l'ordre de 40 mg. pour 100 g. d'azote.

En résumé, on voit que les 17-céto-stéroïdes sont présents dans toutes les poudres opothérapiques, mais qu'il est au moins l'une d'entre elles qui se signale par une teneur particulièrement élevée, tel est le cas de la surrénine. Pour celle-ci, on peut donc considérer que la détermination des 17-céto-stéroïdes, qu'elle contient, représente une détermination qui lui est suffisamment caractéristique pour servir d'essai de contrôle de sa qualité. Enfin, il n'échappe à personne que la détermination des 17-céto-stéroïdes dans les autres poudres opothérapiques peut également constituer un essai digne d'être retenu.

Ajoutons que nous avons également examiné le placenta humain à l'état frais et que sa teneur en 17-céto-stéroïdes n'appelle pas de remarques particulières.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous nous sommes surtout attachés à décrire un protocole expérimental, susceptible de mettre en évidence l'activité de l'hormone corticotrope (A.C.

T.H.), ou de substances éventuellement douées d'une action comparable (A.C.T.H. like). Les techniques utilisées dans ce but sont essentiellement celles désignées sous le nom test de Thorn. Elles comportent l'examen histologique du sang consécutivement à l'injection de la substance soupçonnée d'exciter la capsule surrénale, soit directement, soit par le relais hypophysaire. Nous savons que la mise en jeu du relais hypophysaire ne peut être mise en évidence qu'à la suite d'expérimentations poursuivies sur l'animal hypophysectomisé. N'ayant pu réaliser d'expériences de ce type, nous nous interdirons de discuter l'origine des réactions cortico-surrénalo-hypophysaires. Nous nous sommes donc contentés d'observer des variations de la 17-céto-stéroïdémie consécutivement à l'action de l'A.C.T.H. A la suite de ces expériences poursuivies sur le chien, nous avons pu montrer que l'injection intra-musculaire ou intraveineuse d'A.C.T.H. provoque une augmentation nette du taux des 17-céto-stéroïdes sanguins. Les résultats de nos recherches sont consignés dans le tableau IV (p. 32). On peut les résumer en disant que l'injection d'une unité d'A.C.T.H. par kilog de poids corporel provoque une augmentation du taux des 17-céto-stéroïdes sanguins de l'ordre de 50 p. 100 du taux initial, dans un délai compris entre deux et trois heures après l'injection. Ces résultats s'accordent avec ceux que l'on peut obtenir à la suite du test de THORN classique. Il apparaît cependant plus simple et plus objectif de pouvoir exprimer les résultats d'un test de cet ordre pour une donnée numérique, résultant d'une détermination analytique, plutôt que comme le résultat d'un examen histologique (diminution du nombre des éosinophiles).

En résumé, les résultats montrent l'intérêt qui peut s'attacher à modifier le test de THORN, en substituant à l'examen histologique, la détermination de l'augmentation du taux des 17-céto-stéroïdes consécutivement à l'injection d'une dose déterminée d'A.C.T.H. Nous souhaitons attirer ainsi l'attention des cliniciens sur cette nouvelle technique d'investigation du fonctionnement du cortex surrénal ; enfin nous avons tenté d'appliquer le protocole expérimental, que nous venons de décrire ci-dessus, à la caractérisation des activités comparables à celle de l'A.C.T.H., et dont peuvent faire preuve d'autres substances. Nous nous sommes limités à vérifier l'action cortico-tropique attribuée au placenta et à certains extraits de ce tissu. Pour cela, nous avons injecté au chien des

extraits placentaires, dépourvus de grosses molécules protéiques, et observé les variations de la 17-céto-stéroïdémie consécutivement à cette injection. Le tableau V de la page met en évidence la nette augmentation de la 17-céto-stéroïdémie que l'on note deux ou trois heures après l'injection de doses d'extrait correspondant à 1,25 g., 2,50 g. de placenta frais par kilog de poids corporel. L'activité de ces extraits se manifeste également par la plus ou moins grande rapidité avec laquelle l'augmentation maxima de la 17-céto-stéroïdémie est atteinte = les doses de 2,50 g./kilog conduisent à un taux maximum des 17-céto-stéroïdes au bout de deux heures, tandis qu'il faut attendre au moins trois heures avec des doses de l'ordre de 1,25 g./kilog.

En résumé, ces résultats confirment la présence dans des extraits placentaires purifiés de certaines substances douées d'une activité physiologique, comparable à celle de l'A.C.T.H.

En effet, comme cette dernière, les extraits placentaires sont capables d'activer la sécrétion des cortico-stéroïdes, comme en témoigne l'élévation de la 17-céto-stéroïdémie notée à la suite de leur injection.

RESUME DES CONCLUSIONS.

Les résultats acquis au cours de notre travail sont les suivants :

1° Toutes les poudres opothérapiques contiennent, à des taux divers, des 17-céto-stéroïdes; les taux particulièrement élevés trouvés dans la surrénine et l'hépatine peuvent servir de base à un essai pharmaceutique de ces deux poudres opothérapiques ;

2° Les injections d'A.C.T.H. déclenchent une très nette augmentation de la 17-céto-stéroïdémie ; cette observation peut, dès lors, servir de base à une utile et précise modification du test de THORN ;

3° La détermination de l'activité d'une préparation d'A.C.T.H. ou de toute substance, présentant une activité comparable, peut être mise en évidence par les variations de la substance étudiée, tel est par exemple le cas des extraits placentaires.

LU et APPROUVÉ
Professeur C. DUMAZERT

VU et PERMIS d'IMPRIMER
AIX, le Mars 1955
Le Recteur : G. BLACHE

VU et APPROUVÉ
Pour le Doyen,
L'Assesseur : J. DELPHAUT

BIBLIOGRAPHIE

1. ARON E. — Présence d'un principe corticotrope dans le placenta humain. *Bull. Acad. Méd.*, 1953, p. 420-422.

2. ASZODI. — La formule sanguine et la Vit. C. - 916, t. 81, n° 36, 1937.

3. BADINAND et MALLEIN. — Extraits placentaires et hormone adréno-corticotrope. *Société de Pharmacie de Lyon*, séance du 5 mars 1952.

4. BADINAND, MALLEIN et COTTE. — Isolement à partir du placenta humain d'une substance à activité adréno-corticotrope. *Revue Lyonnaise de Médecine*, n° 6, tome 2, juin 1953, p. 262 (Société de Biologie, 17 novembre 1952).

5. BEALL D. — *Biochem J.*, 1938, 32, 1957.

6. BEZON A. — Les variations de l'éosinophilie sanguine dans les épreuves de Thorn. *Thèse Pharmacie, Marseille*, 10 juillet 1951.

7. BOSCHI et GASPARI. — *Riv. Ist. Sieroterapica Ital.*, 1951, 26, n° 6, 477-489.

8. BOSCHI et GASPARI. — *Riv. Ist. Sieroterapica Ital.*, 1952, 27, n° 4, 308-312.

9. De BRUX et Du BOISTESSELIN. — *Acad. Sc.*, t. 237, p. 1.281-1.283.

10. BUTENANDT. — Naturwissenschaften, 1929, 77, 879. *Z. Physiol. Chem.*, 1930, 188, 1.

11. CALLOW N.-H. — *Biochem J.*, 1939, 33, 559.

12. CHEYMOL J. - CARIDROIT F. et HENRY R. — VIII[e] Congrès Chim. Biol., Paris, 1948.

13. DEROBERT. — L'éosinophilie générale et locale. 1 vol. Doin, édit. Paris, 1942.

14. DOISY, VELER et THAYER. — *Ann. J. Physiol.*, 1929, 90, 329. *J. Biol. Chem.*, 1930, 86, 499. - *Ibid.*, 1950, 87, 357.

15. DUMAZERT C. - VALENSI G. — *C. R. Soc. Biol.*, 1952. 146, 471.

16. DUNGER. — *Munich Med. Woch.*, 1910, 57, 1942.

17. ERIC THING. — *Acta Endocrinol.*, 13, 343-52 (1953).

18. GORIS et LIOT. — *Pharmacie Galénique.*

19. HILLS - FORSHAM - FINCH. — Changes in circulating leukocytes induced by administration of A.C.T.H. in man *Blood*, 3, 755, 1948.

20. HOUSSAY B.-A. — *Physiologie humaine*, 1950, 2, 877 (E. M. F.).

21. HUIS L.-G. in't VELD. — *Acta endocrinol.*, 16, 257-62 (1954).

22. JAWORSKI Z. - KOWALEWSKRI K. — *Acta endocrinol.*, 5, 157-64. 1950.

23. JAYLE M.-F. et LIBERT O. — *Ann. Biol. Chim.*, 1947, 2, 93.

24. JEILER et KNOWLTON. — *J. Clin. Invest.*, 1950, 29, n° 14, 1930.

25. KUTCHELL - MITCHELL. — *Australian J. Exp. Biol. Méd. Soc.*, 14, 58, 1936.

26. LYTT L. - GARDNER. — *Bull. John Hopkins Hosp.*, 94, 105-7, 1954.

27. ROSSI Mariano. — *Riv. Biol. (Perugia)*, 45, 503, 11, 1953.

28. MIGEON C.-J. - JOHN E. - PLAGER. — *Ibid.*, 235, 44, discussion 245 - 60.

29. MIGEON - J.-E. PLAGER. — *J. Biol. Chem.*, 209, 767, 72, 1954.

30. MORELLI A. et GENAZZANI E. (Naples). — *Arch. So. Biol.* (Italie) 36, 602-10, 1952.

31. NORYMBERSKI J.-K. - STUBBS R.-D. — *Lancet.*, 264, 1276, 81, 1953. Sheffield Center Angleterre.

32. OERTEL G. (Konstanz, Allemagne). — *Acta endocrinol.*, 16, 263-6, 1954.

33. OPSAHL J.-C. et LONG C.-N.-H. — *Yale J. Biol. and Med.*, 1951, 24, n° 3, pp. 199 à 209.

34. PERRINI F. et BRUNO L. (Catania, Sicile). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 29, 364-7, 1953.

35. PINCUS G. — *Endocrinol.*, 1943, 32, 176.

36. RANDOLPH. THERON. — Differenciation of eosinophils in comting chambers with glycol stain. *J. Lab. Clin. Méd.*, décembre 1949.

37. ROBERTS S. - SZEGO C.-M. — *Endocrinol.*, 1947, 40, 73.

38. ROBERTSON. — *Nature London.*, 161, 814, 1948.

39. REINCHSTEIN. — *Helv. Chem. Acta*, 1937, 20, 978.

40. SAMUELS L.-T. — Recent progress in hormone research, 1949, 4 65.

41. SAMUELS L.-T. — Asymposium on steroï hormones 241 (*Univ. Wisconsin Press*, Madison Wisconsin 1950).

42. SANNAZZARI P. - ZINOLLI L. - LOTTI G. — *Arch. « E Maragliano » patol., e. clin.*, 9, 775, 88, 1954.

43. SARTORI Guiseppe. — *Igiene Mod.*, 44, 213-20, 1951.

44. SAYERS G. - SAYERS M. — Recent progress in hormone research vol. II, p. 81, 1948 (Proc. Laur. Horm. Conf.).

45. SAYERS - BURNS - KYLE - JAGE et coll. — *J. Clin. Endo.*, 9, 593, 1949.

46. SAYERS G. - SAYERS M. — *Endo.*, 40, 65, 1945.

47. SELYE. — General adaptation syndrome. — *J. Clin. Endo.*, 6, 117, 1946.
— *Ann. d'Endo.*, Paris, 5 et 6, 289, 1946.

48. SELYE. — Textbook of endocrinology - seconde édition - *Acta Endocrinologica Inc. Montréal*, Canada.

49. THORN - FORSHIM. — Recent progress in hormone research., vol. 4, p. 129, 1950, N.-Y. (Proc. Laur. hormone conf.). *J. Clin. Endo.*, 8, 589, 1948.

50. THORN. — Séance extraordinaire Soc. Suisse Endo. Interlaken, 3 septembre 1950.

51. THORN - FORSHAM - HILLS - FINCH - PRUNTY - RECANT. — *Blood.*, 3, 7, 1948.

52. TARRANTINO. — Présence d'A.C.T.H. dans le placenta. *Fol. Endoc. Jap.*, 1951, 4, 197.

53. VACHON et COTTE. — Implants tissulaires et test de Thorn. Soc. Lyonnaise de Dermatologie, 5 avril 1951.

54. VALENSI G. — Dosage des 17-céto-stéroïdes neutres dans l'urine et dans le sang. *Thèse Pharmacie*, Marseille, mars 1952.

55. WILLIAM E. - DULIN (Indiana). — *Endocrinology*, 53, 233-5, 1953.

56. ZIMMERMAN W. — *Z. Physiol. Chem.*, 1935, 233, 257.

57. ZIMMERMAN W. — *Z. Physiol. Chem.*, 1936, 245, 47 (coloration).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 11

Relations entre les hormones stéroïdes et l'ensemble du système endocrinien 17

OBJET DU TRAVAIL 25

RECHERCHES PERSONNELLES

a) - teneur des tissus et des poudres opothérapiques en 17-céto-stéroïdes 26

b) - variations de la 17-céto-stéroïdémie sous l'influence de l'A.C.T.H. 32

c) - variations de la 17-céto-stéroïdémie sous l'influence des extraits placentaires 34

CONCLUSIONS 37

BIBLIOGRAPHIE 43